## 毛果巴豆枝叶的化学成分研究1

李根 <sup>1,2</sup>, 潘争红 <sup>1,2</sup>, 李海云 <sup>1</sup>, 符毓夏 <sup>2</sup>, 李连春 <sup>2</sup>, 于玲玲 <sup>1,2</sup>, 宁德生 <sup>2\*</sup>

(1. 桂林理工大学 化学与生物工程学院,广西 桂林 541006; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所,广西植物功能物质研究与利用重点实验室,广西 桂林 541006)

**摘要:** 为了研究毛果巴豆枝叶中的化学成分,本实验采用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱以及 HPLC 等多种色谱相结合的方法,对毛果巴豆枝叶 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位进行分离,从中得到 8 个化合物,通过波谱数据分析并结合文献比对,化合物分别鉴定为  $2\beta$ -hydroxyteucvidin acetate (1), $2\beta$ -hydroxyteucvidin (2),crotoeurin B (3),山奈酚-3-O-(6"-O-顺式对香豆酰基)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (4),山奈酚-3-O-(6"-O-反式对香豆酰基)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (5),栗苷 A (6),cerevisterol (7),尿嘧啶 (8)。化合物 2-7 均为首次从该植物分离得到。

关键词: 巴豆属,毛果巴豆,化学成分

中图分类号: Q946.8

文献标识码: A

# Chemical constituents from the twigs and leaves of Croton

## lachynocarpus

LI Gen<sup>1,2</sup>, PAN Zhenghong<sup>1,2</sup>, LI Haiyun<sup>1</sup>, FU Yuxia<sup>2</sup>, LI Lianchun<sup>2</sup>, YU Lingling<sup>1,2</sup>, NING Desheng<sup>2\*</sup>

(1. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

**Abstract:** To study the chemical constituents from the twigs and leaves of *Croton lachynocarpus*, eight compounds were isolated from 95% ethanol extract of twigs and leaves of *Croton lachynocarpus*, by means of various chromatographic techniques including column chromatography over silica gel, Sephadex LH-20, and reversed-phase HPLC. Compounds were identified as  $2\beta$ -hydroxyteucvidin acetate (1),  $2\beta$ -hydroxyteucvidin (2), crotoeurin B (3), kaempferol-3-O-(6"-O-cis-p-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside (5), castanoside A (6), cerevisterol (7), uracil (8) by analyzing their spectra data and comparing with the previously reported literatures. Compounds 2-7 are obtained from the plant for the first time.

基金项目: 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA18118015); 广西自然科学基金(2011GXNSFB018022); 中国科学院"西部之光"人才培养计划项目(2012)[Supported by Innovation-Driven Development Special Fund Project of Guangxi(AA18118015); Natural Science Foundation of Guangxi(2011GXNSFB018022); the West Light Foundation of the Chinese Academy of Sciences(2012)]。

**作者简介**: 李根(1995-), 男, 广西南宁人, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学, (E-mail) ligen1048195659@163.com。

<sup>\*</sup>**通信作者:** 宁德生,硕士,助理研究员,研究方向为天然产物开发与利用,(E-mail) 65392586@qq.com。

Keywords: Croton, Croton lachynocarpus, chemical constituents

毛果巴豆(Croton lachynocarpus)为大戟科巴豆属植物,又名小叶双眼龙,主要分布于广西、广东、江西、湖南南部和贵州南部的山地疏林或灌丛中,其幼枝、幼叶、花序和果均密被星状柔毛(中国科学院中国植物志编辑委员会,1996)。该植物具有祛风除湿、散瘀止痛、消肿解毒等功效,民间多以根、叶入药,用于治疗跌打肿痛、风湿性关节炎等疾病。本课题组前期已从毛果巴豆根中分离得到三萜、甾醇、酚酸酯类等成分(Pan et al.,2014;潘争红等,2014);从叶子中发现多种现代香料合成工业可开发利用的挥发油成分,如α-松油醇、桉树醇、α-红没药烯等(宁德生等,2013)。但迄今为止,该植物的物质基础和药理学研究仍较少,致使其应用仍处于中药复方制剂的层面,严重限制了毛果巴豆的开发与利用。因此,为了更全面的阐明该植物的物质基础、寻找更多具有开发利用价值的活性化合物,本课题组进一步开展毛果巴豆枝叶 95% 乙醇提取物的化学成分研究,从中分离鉴定出 8 个化合物,其中 1-3 为二萜类化合物,4-6 为黄酮类化合物,化学结构式见图 1。化合物 2-7 均为首次从毛果巴豆枝叶中分离得到。

### 1 仪器与材料

AVANCE III HD 500 MHz 超导核磁共振波谱仪(TMS 内标,瑞士 Bruker 公司);LC/MS-IT-TOF 质谱仪(日本岛津公司);Agilent 1200 高效液相色谱仪,高效液相所用试剂为色谱纯(赛默飞世尔科技(中国)有限公司),其试剂均为分析纯(西陇化工股份有限公司);柱色谱和薄层色谱所用硅胶(青岛海洋化工有限公司);Sephadex LH-20 凝胶(瑞士Amershan Biosciences 公司)。

毛果巴豆枝叶采自广西桂林市阳朔县,由广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所许 为斌博士鉴定。凭证样品保存于广西植物功能物质研究与利用重点实验室。

### 2 提取与分离

毛果巴豆枝叶 8.0 kg,阴干后粉碎,加入 95% 乙醇 40 L,室温下浸提 24 h,过滤,滤渣以上述方法再提取 2 次,合并提取液,减压浓缩得到 850 g 的浸膏。取 800 g 的浸膏加入适量的水超声分散后,依次加入石油醚、乙酸乙酯萃取 3 次,每次萃取溶剂用量为 2 L,减压浓缩分别得到石油醚部位 144 g、乙酸乙酯部位 239 g。

取乙酸乙酯萃取部位 189 g,经硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(1:0 $\rightarrow$ 0:1)为洗脱剂 进行梯度洗脱,各洗脱流份经过 TLC 检测合并得到 4 个组分 Fr.1~Fr.4。Fr.2 部分经硅胶柱 色谱反复纯化(石油醚-丙酮 = 8: 1),得到化合物 **1** (9 mg)、**2** (7.2 mg)、**7** (15.4 mg) 和 **8** (9.6 mg);Fr.3 通过半制备高效液相色谱分离(50% CH<sub>3</sub>OH,含 0.1% HCOOH)得到化合物 **5** (6.6 mg)、**6** (4.6 mg)。Fr.4 部分利用 Sephadex LH-20 柱色谱纯化,以氯仿/甲醇(1:1)洗脱,得到化合物 **3** (10.2 mg) 和 **4** (7.9 mg)。

图 1 化合物结构 (1-8)

Fig.1 Structures of compounds 1-8

# 3 结构鉴定

化合物 1 针状结晶。HR-ESI-MS m/z: 387.1816 [M+H]<sup>+</sup>,分子式  $C_{21}H_{22}O_{7}$ 。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  6.36 (1H, m, H-14), 5.37 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-12), 2.55 (2H, dd, J = 8.5, 15.0 Hz, H-11b), 2.09 (3H, s, OAc), 1.94 (1H, dd, J = 8.0, 14.0 Hz, H-11a), 1.35 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-17 ); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  28.0 (C-1, t), 66.8 (C-2, d), 24.9 (C-3, t), 124.1 (C-4, s), 161.7 (C-5, s), 76.0 (C-6, d), 35.9 (C-7, t), 38.9 (C-8, d), 51.9 (C-9, s), 33.8 (C-10, d), 39.0 (C-11, t), 72.0 (C-12, d), 125.1 (C-13, s), 108.0 (C-14, d), 144.6 (C-15, d), 139.6 (C-16, d), 14.3 (C-17, q), 171.4 (C-18, s) 176.9 (C-20, s) 169.9 (OC=O, s), 21.1 (COO-CH<sub>3</sub>, q)。以上数据与文献(Savona et al.,1986)报道基本一致。故鉴定化合物 1 为 2 $\beta$ -hydroxyteucvidin acetate。

化合物 2 针状结晶。HR-ESI-MS m/z: 345.1788 [M+H]<sup>+</sup>,分子式  $C_{19}H_{20}O_{6}$ 。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,  $C_5D_5N$ ):  $\delta$  7.83 (1H, s, H-16), 7.70 (1H, s, H-15), 6.69 (1H, s, H-14), 5.52 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-12), 2.66 (1H, dd, J = 8.0, 14.0 Hz, H-11b), 1.99 (1H, dd, J = 8.0, 14.0 Hz, H-11a), 1.39 (3H, d, J = 7.5 Hz, H-17); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz,  $C_5D_5N$ ):  $\delta$  34.7 (C-1, t), 67.8 (C-2, d), 31.8 (C-3, t),

127.5 (C-4, s), 163.9 (C-5, s), 77.6 (C-6, d), 37.0 (C-7, t), 40.7 (C-8, d), 53.6 (C-9, s), 38.0 (C-10, d), 40.6 (C-11, t), 73.6 (C-12, d), 127.2 (C-13, s), 110.3 (C-14, d), 146.1 (C-15, d), 142.1 (C-16, d), 15.5 (C-17, q), 173.6 (C-18, s), 179.2 (C-20, s)。以上波谱数据与文献(Savona et al.,1986)报道基本一致,故鉴定化合物 **2** 为 2β-hydroxyteucvidin。

化合物 3 针状结晶。HR-ESI-MS m/z: 361.1571 [M+H]<sup>+</sup>,分子式  $C_{20}H_{24}O_{6}$ 。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7.46 (1H, br s, H-16), 7.42 (1H, br s, H-15), 6.41 (1H, br s, H-14), 3.10 (1H, dd, J = 15.0, 3.0 Hz, H-7b), 2.57 (1H, dd, J = 13.5, 6.5 Hz, H-11b), 2.34 (1H, dd, J = 13.5 10.0 Hz, H-11a), 2.23 (1H, dd, J = 15.0, 5.5 Hz, H-7a), 2.16 (1H, m, H-4), 1.02 (1H, d, J = 6.5 Hz, H-17); <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub> 125 MHz):  $\delta$  23.1 (C-1, t), 25.5 (C-2, t), 24.9 (C-3, t), 42.3 (C-4, d), 47.4 (C-5, d), 208.8 (C-6, s), 45.4 (C-7, t), 32.9 (C-8, d), 51.5 (C-9, s), 42.6 (C-10, d), 36.5 (C-11, t), 70.7 (C-12, d), 124.0 (C-13, s), 108.2 (C-14, d), 144.3 (C-15, d), 140.0 (C-16, d), 17.0 (C-17, q), 173.7 (C-18, s), 177.0 (C-20, s), 51.4 (COO-CH<sub>3</sub>, q)。以上波谱数据与文献(Pan et al.,2015)报道对照基本一致,故鉴定化合物 3 为 crotoeurin B。

化合物 4 黄色粉末。HR-ESI-MS m/z: 593.1383 [M-H]<sup>+</sup>,分子式  $C_{30}H_{26}O_{13}$ 。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  7.54 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2"', 6"'), 6.69 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3"', 5"'), 6.67 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-7"'), 5.46 (1H, d, J = 13.0 Hz, H-8"'); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  156.5 (C-2, s), 133.0 (C-3, s), 177.3 (C-4, s), 161.2 (C-5, s), 98.8 (C-6, d), 165.1 (C-7, s), 93.7 (C-8, d), 156.4 (C-9, s), 103.8 (C-10, s), 120.8 (C-1', s), 130.8 (C-2', 6', d), 115.0 (C-3', 5', d), 159.9 (C-4', s), 101.1 (C-1", d), 74.0 (C-2", d), 76.2 (C-3", d), 70.0 (C-4", d), 74.1 (C-5", d), 62.7 (C-6", t), 125.3 (C-1"', s), 132.6 (C-2"', 6"', d), 114.8 (C-3"', 5"', d), 158.8 (C-4"', s), 143.6 (C-7"', d), 114.6 (C-8"', d), 165.8 (C-9"', s)。以上波谱数据与文献报道(陈秋等,2012)对照基本一致,故鉴定化合物 4 为山奈酚-3-O-(6"-O-顺式对香豆酰基)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(kaempferol-3-O-(6"-O-cis-P-coumaroyl)- $\beta$ -D-glucopyranoside)。

化合物 6 黄色颗粒状粉末。HR-ESI-MS m/z: 595.1792 [M+H] $^+$ ,分子式  $C_{30}H_{26}O_{13}$ 。  $^1$ H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ ): 12.59 (1H, br s, OH-5), 10.18 (1H, br s, OH-4'), 8.04 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 7.37(1H, d, J = 16.5 Hz, H-7'''), 7.33 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2''', 6'''), 6.85 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.77 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3''', 5'''), 6.39 (1H, s, H-8),  $\delta$  6.14 (1H, s, H-6), 6.10 (1H, d, J = 16.5 Hz, H-8'''), 5.45 (1H, d, J = 7.0 Hz, H-1");  $^{13}$ C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  156.3 (C-2, s), 133.2 (C-3, s), 177.0 (C-4, s), 161.1 (C-5, s), 98.8 (C-6, d), 164.4 (C-7, s), 93.7 (C-8, d), 156.3 (C-9, s), 103.7 (C-10, s), 120.8 (C-1', s), 130.9 (C-2', 6', d), 115.7 (C-3', 5', d), 160.0 (C-4', s), 101.6 (C-1'', d), 73.0 (C-2'', d), 71.0 (C-3'', d), 68.2 (C-4'', d), 72.8 (C-5'', d), 63.2 (C-6'', t), 124.9 (C-1''', s), 130.1 (C-2''', 6''', d), 115.0 (C-3''', 5''', d), 159.8 (C-4''', s), 144.6 (C-7''', d), 113.6 (C-8''', d), 166.1 (C-9''', s)。以上波谱数据与文献报道(王嗣等,2004)对照基本一

致,故鉴定化合物 6 为栗苷 A (castanoside A)。

化合物 7 白色粉末。HR-ESI-MS m/z: 431.3462 [M+H]<sup>+</sup>,分子式  $C_{28}H_{46}O_{3}$ 。 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,  $C_5D_5N$ ):  $\delta$  5.24 (1H, dd, J = 7.5, 15.5 Hz, H-23), 5.17 (1H, dd, J = 8.0, 15.5 Hz, H-22), 4.84 (1H, m, H-3), 4.33 (1H, br s, H-6), 1.54 (3H, s, H-19), 1.07 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 0.96 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-28), 0.88 (3H, d, J = 8.5 Hz, H-27), 0.86 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-26), 0.68 (3H, s, H-18); <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz,  $C_5D_5N$ ):  $\delta$  32.6 (C-1, t), 33.8 (C-2, t), 67.5 (C-3, d), 41.9 (C-4, t), 76.1 (C-5, s), 74.2 (C-6, d), 120.4 (C-7, d), 141.5 (C-8, s), 43.7 (C-9, d), 38.0 (C-10, s), 22.3 (C-11, t), 39.8 (C-12, t), 43.7 (C-13, s), 55.2 (C-14, d), 23.4 (C-15, t), 28.4 (C-16, t), 56.1 (C-17, d), 12.4 (C-18, q), 18.7 (C-19, q), 40.8 (C-20, d), 20.1 (C-21, q), 136.1 (C-22, d), 132.1 (C-23, d), 43.0 (C-24, d), 33.3 (C-25, d), 21.3 (C-26, q), 19.8 (C-27, q), 17.8 (C-28, q)。以上数据与文献(GAO et al., 2001) 报道对照基本一致,故鉴定化合物 7 为 cerevisterol。

#### 4讨论

据文献记载,毛果巴豆叶作为复方制剂中的材料之一,与鸡骨香、田基黄等中药材制成的中药散剂(湛江蛇药,又名何晓生蛇药)具有消肿、止痛及解蛇毒的功效(蛇志编辑部,1990)。但迄今为止没有针对毛果巴豆枝叶化学物质基础的研究报道。本研究共从毛果巴豆枝叶分离鉴定8个化合物,结构涉及克罗烷型二萜、黄酮、甾醇等类型。现代药理学研究表明,克罗烷型二萜普遍具有良好的抗炎、抗菌、抗肿瘤等生物活性(陈昊等,2017)。黄酮类化合物山奈酚-3-O-(6"-O-顺式对香豆酰基)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(4)及山奈酚-3-O-(6"-O-反式对香豆酰基)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(5)的细胞毒性较低,且具有不同程度的抗氧化活性,前者还具有明显的抗炎活性(任珊珊等,2016);甘栗 A(6)具有一定的细胞毒性(其 IC<sub>50</sub>为77.91 $\mu$ M)(张玉雪,2010)。甾醇化合物 cerevisterol(7)能够抑制血清饥饿介导的 MC3T3-E1细胞凋亡(Hata K et al.,2002)。因此,通过对毛果巴豆枝叶的化学成分研究,不仅丰富该植物的物质基础,而且为今后开发利用提供科学依据。

#### 参考文献:

- CHEN H, LIANG JY, SUN JB, et al., 2017. Progress on diterpenoids and their biological activities of the genus *Ajuga* [J], Strait Pharm J, 29(3): 1-10. [陈昊,梁敬钰,孙建博,等, 2017. 筋骨草属植物中二萜类成分的化学及药理活性研究进展[J]. 海峡药学, 29(3): 1-10.]
- CHEN Q, WAMG T, GE DD, et al., 2012. Isolation and identification of flavonoids from *Leontopodium leontopodioides* (Willd.) Beauv. (II) [J]. J Shenyang Pharm Univ, 29(2): 104-108. [陈秋,王涛,葛丹丹,等,2012. 火绒草黄酮类成分的分离与鉴定(II)[J]. 沈阳 药科大学学报,29(2): 104-108.]
- Editorial Commission of China Flora of Chinese Academy of Sciences, 1996. Flora of China: 44(2) [M]. Beijing: Science Press: 131. [中国科学院中国植物志编辑委员会, 1996. 中国植物志: 44(2) [M]. 北京: 科学出版社: 131.]
- GAO JM, HU L, LIU JK, 2001. A novel sterol from Chinese truffles *Tuber indicum* [J]. Steroids, 6610: 771-775.
- GAO JM, SHEN J, YANG X, et al., 2001. The constituents of Russula ochroleuca basidiomycetes

- [J]. Acta Bot Yunnan, 23(3): 385-395. [高锦明,沈杰,杨雪,等,2001. 黄白红菇的化学成分[J]. 云南植物研究,23(3): 385-393.]
- HATA K, SUGAWARA F, OHISA N, et al., 2002. Stimulative effects of (22E, 24R)-ergosta-7, 22-diene-3 $\beta$ , 5 $\alpha$ , 6 $\beta$ -triol from fruiting bodies of *Tricholima auratum*, on a mouse osteoblastic cell line, MC3T3-E1 [J]. Biol Pharm Bull, 25(8): 1040-1044.
- Editing Department of Journal of Snake, 1990. Guangdong Snake Collection [J]. J Snake, (2):20. [蛇志编辑部, 1990. 广东蛇药集锦[J]. 蛇志, (2): 20.]
- NING DS, JIANG LH, LÜ SH, et al., 2013. GC-MS analysis of volatile constituents from leaves of *Croton euryphyllus* and *C.lachynocarpus* [J]. Guihaia, 33(3): 364-367. [宁德生,蒋丽华,吕仕洪,等,2013. 石山巴豆与毛果巴豆叶中挥发油成分分析[J]. 广西植物,33(3): 364-367.]
- PAN ZH, NING DS, WU XD, et al., 2015. New clerodane diterpenoids from the twigs and leaves of *Croton euryphyllus* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 25(6): 1329-1332.
- PAN ZH, NING DS LIU JL, et al., 2014. A new triterpenoid saponin from the root of *Croton lachnocarpus* Benth [J]. Nat Prod Res, 28(1): 48-51.
- PAN ZH, WU YF, NING DS, et al., 2014. Chemical constituents from the root of *Croton lachynocarpus* [J]. Guihaia, 34(2): 148-150. [潘争红,吴云飞,宁德生,等,2014. 毛果巴豆根的化学成分研究[J]. 广西植物,34(2): 148-150.]
- REN SS, BAO BQ, GEGENTANA, et al., 2016. Study on the flavonoids and biological activity of *Rubus sachalinensis* [J]. J Chin Med Mat, 39(9): 2019-2023. [任珊珊,包保全,格根塔娜,等,2016. 蒙药悬钩子木黄酮类成分及其生物活性研究[J]. 中药材,39(9): 2019-2023.]
- SAVONA G, PIOZZI F, RODRIGUEZ B, et al., 1986. 2*β*-hydroxyteucvidin from *Teucrium* webbianum [J]. Phytochemistry, 25(12): 2857-2859.
- WANG S, TANG WZ, DING XB, 2004. Two new flavonoids from the flower of *Castanea mollissima* Blume [J]. Acta Pharm Sin, 39(6): 442-444. [王嗣, 唐文照, 丁杏苞, 2004. 板 栗花中两个新黄酮苷类化合物[J]. 药学学报, 39(6): 442-444.]
- ZHANG YX, 2010. Study on the active constituents of *Verbena officinalis* L. [D]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University. [张雪玉, 2010. 马鞭草的活性成分研究[D]. 上海: 上海交通大学.]